

## **Device for automatically carrying out polymerase chain reactions**

**Patent number:** EP0807467  
**Publication date:** 1997-11-19  
**Inventor:** BIRRER LUKAS (CH); MOSER ROLF (CH)  
**Applicant:** HOFFMANN LA ROCHE (CH)  
**Classification:**  
- international: B01L7/00; B01L9/06; C12Q1/68  
- european: B01L7/00D, B01L9/06  
**Application number:** EP19970112702 19940831  
**Priority number(s):** CH19930002717 19930910; FP19940113574 19940831

**Priority number(s):** CH19930002717 19930910; EP19940113574 19940831

**Also published as**

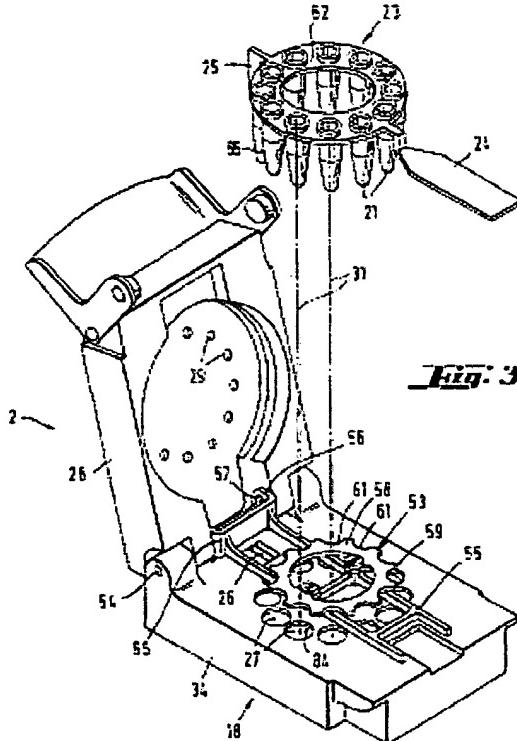
- EP0807468 (A2)  
EP0807468 (A3)  
EP0807467 (A3)  
EP0807468 (B1)  
EP0807467 (B1)

### **Cited documents:**

- EP0488769  
WO9220778  
DE8804938U  
DE3024210

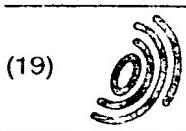
## Abstract of EP0807467

Apparatus to act as a thermal cycler for an automatic polymerase chain reaction with a number of chambers (27), has a circular array of the chambers (27) in the carrier (33), to take the reaction vessels (21). The carrier (3) is of a material with high thermal conductivity. Each reaction vessel (21) is closed by a cover (87). A computer control gives a cycled alteration to the carrier temperature.



Data supplied from the [esp@cenet](mailto:esp@cenet) database - Worldwide

**BEST AVAILABLE COPY**



(19)

Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



(11)

EP 0 807 467 A2

(12)

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:  
19.11.1997 Patentblatt 1997/47

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>: B01L 7/00, B01L 9/06,  
C12Q 1/68

(21) Anmeldenummer: 97112702.2

(22) Anmeldetag: 31.08.1994

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
AT BE CH DE DK ES FR GB IT LI NL

(30) Priorität: 10.09.1993 CH 2717/93

(62) Dokumentnummer(n) der früheren Anmeldung(en)  
nach Art. 76 EPÜ:  
94113574.1 / 0 642 831

(71) Anmelder:  
F. HOFFMANN-LA ROCHE AG  
4070 Basel (CH)

(72) Erfinder:  
• Moser, Rolf  
6354 Vitznau (CH)  
• Birrer, Lukas  
6005 Luzern (CH)

(74) Vertreter:  
Ventocilla, Abraham et al  
Grenzacherstrasse 124  
4070 Basel (CH)

Bemerkungen:

This application was filed on 24 - 07 - 1997 as a  
divisional application to the application mentioned  
under INID code 62.

## (54) Vorrichtung zur automatischen Durchführung von Polymerase-Kettenreaktionen

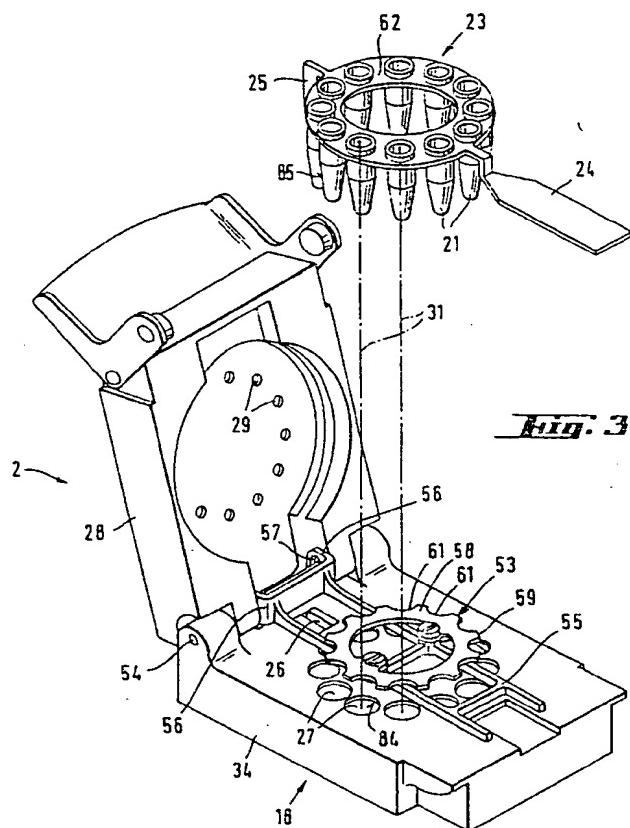
(57) Vorrichtung zur automatischen Durchführung von Polymerase-Kettenreaktionen in einer Vielzahl von Reaktionsbehältern, wobei jedes Reaktionsbehälter mit einem Deckel verschlossen ist und ein vorbestimmtes Volumen eines flüssigen Reaktionsgemisches enthält, welche Vorrichtung folgende Komponenten enthält:

dadurch gekennzeichnet, dass

- a) einen Träger (33), der eine Anordnung von Kammern (27) zur Aufnahme der Reaktionsbehälter hat (21), wobei jede Kammer dazu geeignet ist, den unteren Teil eines Reaktionsbehälters aufzunehmen, und wobei der Träger (33) aus einem Material besteht, dass eine hohe thermische Leitfähigkeit hat, und dass er eine obere Fläche, eine untere Fläche und eine zylindrische Außenwand hat, wobei jede der Kammer (27) des Trägers (33) eine Öffnung hat, die in der oberen Fläche des Trägers liegt,
- b) in den Kammern (27) des Trägers (33) angeordneten Reaktionsbehälter (21), die je mit einem Deckel (87) verschlossen sind,
- c) eine computergesteuerte Steuer- und Regeleinrichtung, und
- d) durch die Steuer- und Regeleinrichtung gesteuerte Mittel zur zyklischen Änderung der Temperatur des Trägers.

- (i) die Anordnung der Kammer (27) im Träger (33) ringförmig ist,
- (ii) sie einen klappbaren Deckel (28) zum Festhalten der verschlossenen, im Träger (33) angeordneten Reaktionsbehälter (21) enthält, und
- (iii) eine Aushebevorrichtung zur Erleichterung der Entnahme der Reaktionsbehälter (21) aus den Kammern (27) im Träger (33) enthält, welche Aushebevorrichtung einen Auswurfhebel (55), der an einem Ende mit einem Scharnier des klappbaren Deckels (28) verbunden und am anderen Ende frei ist, und eine Auswurfscheibe (58) enthält, die mit der Rotationssymmetrieachse des Trägers (33) konzentrisch ist, auf dem Auswurfhebel (55) befestigt ist und an der Peripherie eine Anordnung von Ausnehmungen (61) hat, die zur Entnahme der Reaktionsbehälter (21) aus den Kammern (27) dienen.

Zur Erleichterung der Entfernung der Reaktionsbehälter aus den Kammern des Trägers ist die Vorrichtung



*Fig. 3*

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur automatischen Durchführung von Polymerase-Kettenreaktionen in einer Vielzahl von Reaktionsbehältern, wobei jedes Reaktionsbehälter mit einem Deckel verschlossen ist und ein vorbestimmtes Volumen eines flüssigen Reaktionsgemisches enthält, welche Vorrichtung folgende Komponenten enthält:

- a) einen Träger, der eine Anordnung von Kammern zur Aufnahme der Reaktionsbehälter hat, wobei jede Kammer dazu geeignet ist, den unteren Teil eines Reaktionsbehälters aufzunehmen, und wobei der Träger aus einem Material besteht, dass eine hohe thermische Leitfähigkeit hat, und dass er eine obere Fläche, eine untere Fläche und eine zylindrische Außenwand hat, wobei jede der Kammer des Trägers eine Öffnung hat, die in der oberen Fläche des Trägers liegt,
- b) in den Kammern des Trägers angeordneten Reaktionsbehälter, die je mit einem Deckel verschlossen sind,
- c) eine computergesteuerte Steuer- und Regeleinrichtung, und
- d) durch die Steuer- und Regeleinrichtung gesteuerte Mittel zur zyklischen Änderung der Temperatur des Trägers.

Die Erfindung betrifft insbesondere eine Vorrichtung dieser Art, die vorzugsweise als integrierter Bestandteil eines automatischen Analysengerätes zur Durchführung der Polymerase-Kettenreaktion ("Polymerase-Chain-Reaction") geeignet ist.

Eine Vorrichtung der oben erwähnten Art ist in der EP-A-0 488 769 A2 beschrieben.

Eine Vorrichtung der oben erwähnten Art ist auch in der EP-A-0 236 069 A2 beschrieben, in der ausserdem darauf hingewiesen wird, dass Mittel zur zyklischen Änderung der Temperatur eines Trägers der oben erwähnten Art ein Peltier-Element enthalten können.

Vorrichtungen der eingangs genannten Art werden "Thermal cycler" genannt. Diese Bezeichnung wird in der nachstehenden Beschreibung verwendet.

Die in der EP-A-0 488 769 A2 und in der EP-A-0 236 069 A2 beschriebenen Vorrichtungen haben den Nachteil, dass durch die Temperatur-Änderungen und die auf die Reaktionsbehälter wirkenden Druck die Außenwände der Reaktionsbehälter an den Wänden der Kammern des Trägers haften. Die dadurch erwirkte kraftschlüssige Verbindung erschwert das Entfernen der Reaktionsbehälter aus dem Trägers.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde eine Vorrichtung der eingangs erwähnten Art zur Verfügung zu stellen, mit welcher der oben erwähnte Nachteil behoben werden kann.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß mit einer Vorrichtung der eingangs genannten Art gelöst, die dadurch gekennzeichnet ist, dass

(i) die Anordnung der Kammer im Träger ringförmig ist,

(ii) sie einen klappbaren Deckel zum Festhalten der verschlossenen, im Träger angeordneten Reaktionsbehälter enthält, und

(iii) eine Aushebevorrichtung zur Erleichterung der Entnahme der Reaktionsbehälter aus den Kammern im Träger enthält, welche Aushebevorrichtung einen Auswurfhebel, der an einem Ende mit einem Scharnier des klappbaren Deckels verbunden und am anderen Ende frei ist, und eine Auswurfscheibe enthält, die mit der Rotationssymmetriearchse des Trägers konzentrisch ist, auf dem Auswurfhebel befestigt ist und an der Peripherie eine Anordnung von Ausnehmungen hat, die zur Entnahme der Reaktionsbehälter aus den Kammern dienen.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung erleichtert die Entfernung der Reaktionsbehälter aus den Kammern des Trägers nach Durchführung der Polymerase-Kettenreaktionen.

Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Vorrichtung ist, dass sie den oben erwähnten Nachteil der bekannten Vorrichtungen dieser Art auf möglichst einfache Weise und mit geringem Aufwand behebt.

## Beschreibung eines Ausführungsbeispiels

Ein Ausführungsbeispiel der Erfindung wird im folgenden anhand der beiliegenden Zeichnungen beschrieben. Es zeigen:

- Fig. 1 einen aus einem Analysengerät herausgenommenen Thermalcycler-Teil 2, der Thermalcycler 18 und 19 enthält, wobei der Thermalcycler 18 geöffnet und einen daraus entnommenen Proberöhrchenring 23 gezeigt wird,
- Fig. 2 einen Schnitt durch die Linie II- II in Fig. 1, wobei der Thermalcycler 18 geschlossen ist,
- Fig. 3 eine perspektivische Ansicht des Thermalcyclers 18 gemäß Fig. 1, welcher durch eine Aushebevorrichtung 53 ergänzt ist,
- Fig. 4 einen gegenüber Fig. 2 vergrößerten Schnitt durch den Thermalcycler im geschlossenen Zustand,
- Fig. 5 einen Thermalcycler gemäß Fig. 4 im geöffneten Zustand,
- Fig. 6 eine schematische Darstellung einer "Master-Slave"-Steuerung zur Regelung und Überwachung der Betriebsparameter eines Thermalcyclers,
- Fig. 7 ein Temperatur-Zeit-Diagramm eines im

Master-Prozessor gespeicherten Temperaturverlaufes bzw. die daraus resultierenden Temperaturen des Thermoblocks und der Probe.

#### Thermalcyler

In der nachstehenden Beschreibung wird mit Thermalcyler eine Vorrichtung bezeichnet, die zur automatischen Durchführung von Temperaturzyklen in wenigstens einem mit einem Deckel geschlossenen Proberöhrchen 21 dient, das ein vorbestimmtes Volumen eines flüssigen Reaktionsgemisches enthält.

Nachstehend wird ein Thermalcyler beschrieben, der vorzugsweise als Bestandteil eines automatischen Analysengerätes zur Durchführung der Polymerase-Kettenreaktion geeignet ist. Das Analysengerät ist beispielsweise zur Durchführung von Immunoassays ausgelegt.

In Fig. 1 ist ein Thermalcyler-Teil 2 aus einem Analysengerät 1 ausgebaut dargestellt. Dieser Thermalcyler-Teil 2 enthält z.B. zwei identische Thermalcyler 18, 19 und eine Stand-by Position 22. Die nachstehende Beschreibung des Thermalcyler 18 gilt auch für den Thermalcyler 19.

Der Thermalcyler 18 enthält folgende Komponenten:

- a) einen Thermoblock 33, der als Träger der Proberöhrchen dient, und der eine ringförmige Anordnung von Ausnehmungen 27 hat, wobei jede Ausnehmung als Kammer zur Aufnahme des unteren Teils eines Proberöhrchen 21 dient,
- b) eine in Fig. 6 dargestellte computergesteuerte Steuer- und Regeleinrichtung, und
- c) durch diese Steuer- und Regeleinrichtung gesteuerte Heiz- bzw. Kühlelemente als Mittel zur zyklischen Änderung der Temperatur des Thermoblocks 33.

Der Thermoblock 33 besteht aus einem Material, dass eine hohe thermische Leitfähigkeit hat. Der Thermoblock 33 ist vorzugsweise ein Körper aus Aluminium oder Silber. Der Thermoblock 33 hat eine obere Fläche, eine untere Fläche und eine zylindrische Außenwand, wobei jede der Ausnehmungen 27 des Thermoblocks 33 eine Öffnung hat, die in der oberen Fläche des Trägers liegt.

Wie in Figuren 1 und 3 dargestellt, sind z.B. zwölf Proberöhrchen 21 zu einem Proberöhrchenring 23 zusammengefasst. Die Proberöhrchen 21 sind im unteren Bereich konisch, im oberen Bereich zylindrisch geformt und durch einen Deckel 87 dicht verschlossen. Wie in Fig. 1 und 3 gut zu erkennen ist, kann eine derartige Proberöhrchenanordnung 23 in entsprechende Ausnehmungen 27 des Thermoblocks 33 des Thermalcyclers 18 eingesetzt werden.

#### Zugriff zum Inhalt eines Proberöhrchens

Der Thermalcyler 18 hat einen klappbaren Deckel 28, der pro Ausnehmung 27 des Thermoblocks 33 eine Öffnung 29 aufweist, die ein Durchstechen des Verschlusses 87 des in der Ausnehmung eingesetzten Proberöhrchens 21 mit einer Pipettieradel ermöglicht. Wie aus Fig. 2 ersichtlich, fluchtet bei geschlossener Stellung des Klappdeckels 28 jede der Öffnungen 29 mit der Längsachse 31 des entsprechenden Proberöhrchens 21.

Die Öffnungen 29 des Klappdeckels 28 ermöglichen den Zugriff zum Inhalt jedes Proberöhrchens bei geschlossenem Klappdeckel 28. Dafür wird die Pipettieradel 32 einer (in Figur 3 nicht dargestellten) Pipettiereinrichtung durch eine der Öffnungen 29 eingeführt, der Deckel 87 des Proberöhrchens 21 mit der Pipettieradel 32 durchgestochen und anschließend ein bestimmtes Volumen der im Proberöhrchen enthaltenen Flüssigkeit abgesaugt.

#### Wärmeübertragung zwischen Thermoblock und Proberöhrchen

Es ist aus Fig. 2 ersichtlich, dass die Ausnehmungen 27 im Thermoblock 33 an den konischen Bereich der Proberöhrchen 21 angepasst sind, sodass die Umfangswandlung des Proberöhrchens 21 zuverlässig an die Innwandung der Ausnehmung 27, zwecks bester Wärmeübertragung, zur Anlage kommen kann. Um die thermische Reaktionsgeschwindigkeit, Präzision und Homogenität zu erhöhen, ist der Thermoblock 33 möglichst wärmeisoliert in einem Gehäuse 34 gehalten und weist wenig Masse bei guter thermischer Leitfähigkeit auf.

#### Heizelement im klappbaren Deckel des Thermalcyclers

Der Deckel 28 enthält vorzugsweise ein Heizelement, z.B. eine elektrische Widerstandsheizung 52, die zum Beheizen der verschlossenen, im Thermoblock 33 angeordneten Proberöhrchen dient.

In einer ersten Ausführungsform des Thermalcyclers wird die elektrische Widerstandsheizung 52 in Kombination mit einem nachstehend beschriebenen Peltier-Element 36 verwendet, um ein gewünschtes Temperaturprofil (Temperaturverlauf über ein bestimmtes Zeitintervall) im Thermoblock 33 zu erzielen. In dieser Ausführungsform wird das Peltier-Element je nach der zu erreichen Temperatur innerhalb eines Temperaturprofils als Kühl- oder als Heizelement verwendet.

Die Zusammenwirkung der elektrischen Widerstandsheizung 52 mit dem Peltier-Element 36 ermöglicht, die erforderliche Schnelligkeit der Temperaturländerungen des Thermoblocks 33 sowie die erforderliche Präzision und Homogenität der Temperaturverteilung zu erreichen. Durch die Wirkung der Widerstandsheizung 52 wird außerdem eine etwaige

Kondensatbildung im Deckelbereich des Proberöhrchens 21 vermieden.

#### Verschliess- und Anpresseinrichtung des Klappdeckels des Thermalcyclers

Der Klappdeckel 28 enthält vorzugsweise eine Verschliess- und Anpresseinrichtung zum Festhalten der verschlossenen, im Thermoblock 33 angeordneten Proberöhrchen 21. Hierfür weist der Klappdeckel 28 eine federnd gehaltene Andruckplatte 46 auf, welche jeden Proberöhrchen 21 mit einer definierten Kraft in die Ausnehmungen 27 des Thermoblocks 33 hineindrückt. Ausnehmungen 47 zur Aufnahme der kalottenförmigen Deckel 87 der Proberöhrchen 21 sowie Durchstichöffnungen 48 für die Pipettieradel 32 sind koaxial zu den Proberöhrchen 21 in der Andruckplatte 46 vorgesehen. Als Federelement kann eine Wellscheibe 49 vorgesehen sein. Durch einen Sicherungsring 51 ist die Andruckplatte 46 bei geöffnetem Klappdeckel 28 gegen Herausfallen gesichert.

Die oben erwähnte Widerstandsheizung 52 ist vorzugsweise in der federnden Andruckplatte 46 enthalten.

#### Peltier-Element als Kühl- oder Heizelement

Wie in Fig. 2 dargestellt, enthält ein Thermalcyler 18 vorzugsweise wenigstens ein Peltier-Element 36 als Teil der im Thermalcyder 18 vorgesehenen Mittel zur zyklischen Änderung der Temperatur des Thermoblocks 33. Das Peltier-Element 36 ist mit seiner einen Wärmeübergangsfläche 37 grossflächig mit der unteren Fläche des Thermoblocks 33 und mit seiner anderen Wärmeübergangsfläche 38 grossflächig an einen Kühlkörper 39 zur Wärmeabfuhr thermisch in Kontakt gebracht. Der Kühlkörper 39 ist vorzugsweise aus Aluminium oder Kupfer. Zur Wärmeabfuhr ist ein schaltbarer Ventilator 45 vorgesehen.

Das in Fig. 2 schematisch dargestellte Peltier-Element 36 ist vorzugsweise eine Anordnung solcher Elemente.

In der oben erwähnten ersten Ausführungsform des Thermalcyclers wird das Peltier-Element 36 als Kühl- oder als Heizelement verwendet. Diese Betriebsweise des Peltier-Elementes 36 und seine Zusammenwirkung mit der elektrischen Widerstandsheizung 52 ermöglicht, die erforderliche Temperatur des Thermoblocks innerhalb eines Temperaturprofils zu erreichen.

Zur Verlängerung der Lebensdauer des Peltier-Elementes 36 ist dieser vor thermodynamisch begründeten mechanischen Spannungsspitzen vorzugsweise dadurch geschützt, dass das Peltier-Element 36 durch eine zentrale, federvorgespannte Befestigung gegen den Thermoblock 33 gepresst gehalten wird. Hierfür wird das Peltier-Element elastisch zwischen den Wärmeübertragungsfächen des Thermoblocks 33 und des Kühlkörpers 39 eingespannt. Dafür wird der Kühlkörper 39 z.B. mittels einer Druckfeder 41 mit seiner Kontaktfläche gegen das Peltier-Element 36 gedrückt. Die

Federspannung kann über eine Einstellschraube 42, Federteller 43 und ein Kugelgelenk 44 eingestellt werden, welches die Freiheitsgrade des Kühlkörpers 39 noch weiter erhöht.

5

#### Peltier-Element ausschliesslich als Kühelement

In einer Variante des hier beschriebenen Ausführungsbeispiels wird das Peltier-Element 36 ausschliesslich als kälteerzeugendes Element, d.h. nur als Kühelement verwendet. Dadurch wird eine Verlängerung der Lebensdauer des Peltier-Elementes erreicht.

10

#### Zusätzliches Heizelement um den Thermoblock

15

In einer zweiten Ausführungsform des Thermalcyclers enthält dieser vorzugsweise zusätzlich eine elektrische Widerstandsheizung 35, die um den Thermoblock 33 und entlang des Umfangs seiner zylindrischen, äusseren Wand angeordnet ist. Bei Verwendung dieses zusätzlichen Heizelementes im Thermalcyler wird das Peltier-Element 36 nur zum Kühlen verwendet. Dies bringt den Vorteil einer Entlastung des Peltier-Elements von thermisch bedingtem mechanischem Stress und trägt dadurch dazu bei die Lebensdauer des Peltier-Elements im Thermalcyler zu verlängern.

#### Aushebevorrichtung

20

Durch die Temperatur-Änderungen und der Wirkung der Feder 49 haften die konischen Bereiche der Proberöhrchen 21 an den Wänden der Ausnehmungen 27 des Thermoblocks 33. Die dadurch erwirkte kraftschlüssige Verbindung erschwert das Entfernen der Proberöhrchen 21 aus dem Thermalcyler 2. Aus diesem Grunde wurde in der Ausführungsform gemäss Fig. 3 bis 5 eine Aushebevorrichtung 53 vorgeschlagen, welche die Entnahme des Proberöhrchenringes 23 aus dem Thermoblock 33 erheblich erleichtert.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

70

75

80

85

90

95

100

105

110

115

120

125

130

135

140

145

150

155

160

165

170

175

180

185

190

195

200

205

210

215

220

225

230

235

240

245

250

255

260

265

270

275

280

285

290

295

300

305

310

315

320

325

330

335

340

345

350

355

360

365

370

375

380

385

390

395

400

405

410

415

420

425

430

435

440

445

450

455

460

465

470

475

480

485

490

495

500

505

510

515

520

525

530

535

540

545

gen 27 im Thermoblock 33, bzw. den zylindrischen Bereichen der Proberöhrchen 21 fließen, welche in die Ausnehmungen 27 eingesetzt sind (Fig. 5). Der peripherie Rand 59 der Auswurfscheibe 58 untergreift somit den inneren flanschartigen Bereich 62 des Proberöhrchenringes 23 bzw. die Flansche der Proberöhrchen 21. Die Gestalt und Funktion der Ausnehmung 57 in den Laschen 56 der Wippe 55 im Zusammenhang mit der Drehachse 54 des Klappdeckels 28 sowie eines am Klappdeckel 28 in einem Abstand e angebrachten Steuerstiftes 63, welcher ebenso in die Ausnehmung 57 eingreift, ist aus Figuren 4 und 5 ersichtlich. Bei geschlossenem Klappdeckel 28 ist die Aushebevorrichtung 53 noch funktionslos. Beim öffnen des Klappdeckels 28 gerät der Stift 63 ab einem gewissen Öffnungswinkel in Kontakt mit einer Steuerfläche 64 der Ausnehmung 57 und bewirkt ein Verschwenken der Wippe 55 um den Punkt P, was ein Aufheben der Probenbehälter 21 zur Folge hat. Durch die Kippbewegung der Wippe 55 um den Punkt P bzw. durch die zunehmende Schrägstellung der Auswurfscheibe 58 wird bewirkt, dass sich die den einzelnen Proberöhrchen 21 zugeordneten Losbrechkräfte zeitlich versetzt manifestieren, so dass die Proberöhrchen 21 nach und nach aus ihren Ausnehmungen 27 gelöst werden. Der Kraftaufwand und die Materialbeanspruchung wird dadurch auf niedrigem Niveau gehalten und der Bedienungskomfort erhöht.

#### Steuerung und Regelung des Thermalcyclers

Eine Steuer- und Regeleinrichtung des Thermalcyclers 18 über Master-Slave-Prozessoren 72, 73 ist in Fig. 6 schematisch dargestellt.

Die Temperatur der Andruckplatte 46 des Klappdeckels 28, des Thermoblocks 33 und der Umgebung wird mittels Temperaturfühler 65, 66, 67 erfasst und über ein Temperatur-Interface 68 dem Slave-Prozessor 73 zugeführt. Im Master-Prozessor 72 (Schnittstelle zum Benutzer) werden unter anderem die Temperatursollwerte, die Zeitsollwerte, die Anzahl der Temperaturzyklen und die Geschwindigkeit der Heiz- und Kühlvorgänge eingegeben.

Es können bereits vorbestimmte, gespeicherte Temperatur/Zeitprofile gewählt und abgefahren werden. Die Eingabe erfolgt über die Tastatur 16 oder eine andere Schnittstelle. Diese Daten werden dem Slave-Prozessor 73 zugeführt, welcher über Regler 69 einen Leistungssteller 71 ansteuert, welcher wiederum die Energieversorgung der Heizelemente 35, 52 und des Peltier-Elements 36 regelt. Die Rückmeldungen (Ist-Werte) werden über den Slave-Prozessor 73 dem Master-Prozessor 72 zugeführt und dort verarbeitet bzw. dem Benutzer angezeigt. Auf diese Weise wird der Benutzer über die momentane Probentemperatur, die bereits erreichten Temperaturen mit Zeitangabe und die noch zu erreichenden Temperaturen mit Zeitangabe informiert.

Der Betriebszustand des Systems wird ständig

überwacht und protokolliert. Fehler, die nicht vom System selbst behoben werden können, bewirken eine automatische Abschaltung oder Fehlermeldung.

Die Temperatur der Probe wird aus der Temperatur des Thermoblocks 33 rechnerisch ermittelt. Dazu wird die Übertragungsfunktion vom Probenraum zur Probe im Proberöhrchen 21 bestimmt. Diese Funktion ist im wesentlichen ein Tiefpass mit Totzeit.

Anhand geeigneter Regelalgorithmen (abgetastete Systeme) wird jeweils die Stellgröße berechnet, die nötig ist, um die Temperatur der Probe der vorgegebenen Sollwerttemperatur nachzuführen. Diese Berechnungen werden mit einem Signalprozessor durchgeführt. Die berechnete Stellgröße wird in Form einer Pulsweite dem Leistungssteller 71 zugeführt. Der Leistungssteller 71 ist z.B. ein Leistungs-FET mit einer dazu passenden Schutz- und Entstörsschaltung.

Die oben beschriebene Steuerung und Regelung ermöglicht den Einsatz des Thermalcyclers um Proben in einem im Thermalcycler eingesetzten Proberöhrchenring nach bestimmten Temperaturprofilen zu heizen und zu kühlen. Die Temperaturprofile sind definiert durch Plateau-Temperaturen definierter Dauer, und der Gradient, der die Zeit definiert, bei der eine Plateau-Temperatur erreicht sein muss. Bedingung ist, dass alle Proben im Thermalcycler zur gleichen Zeit die gleichen Temperaturen haben.

In Fig. 7 sind beispielsweise Temperaturverläufe aus einem Zyklusprozess aufgezeigt. Kurve A zeigt den Temperaturverlauf am Thermoblock 33, die Kurve B zeigt den Temperaturverlauf der Flüssigkeit im Reaktionsbehälter 21. Mit dem Thermalcycler können Temperaturen zwischen 40 und 98 Grad Celsius eingestellt werden. Typischerweise liegen die unteren Temperaturen zwischen 50 und 60 Grad Celsius und die oberen Temperaturen zwischen 90 und 96 Grad Celsius. Wenn die mittlere Temperatur benutzt wird, liegt sie um 72 Grad Celsius. Die mit dem Thermalcycler erzielte Heiz-/Kühl-Geschwindigkeit beträgt 1 Grad Celsius pro Sekunde. Ein typisches Zyklus hat eine Dauer von 120 Sekunden. Wenn die entsprechende Temperaturen länger als 10 Sekunden gehalten werden müssen, verlängert sich die Zyklusdauer entsprechend.

#### Patentansprüche

1. Vorrichtung zur automatischen Durchführung von Polymerase-Kettenreaktionen in einer Vielzahl von Reaktionsbehältern, wobei jedes Reaktionsbehälter mit einem Deckel verschlossen ist und ein vorbestimmtes Volumen eines flüssigen Reaktionsgemisches enthält, welche Vorrichtung folgende Komponenten enthält:

a) einen Träger (33), der eine Anordnung von Kammern (27) zur Aufnahme der Reaktionsbehälter hat (21), wobei jede Kammer dazu geeignet ist, den unteren Teil eines Reaktionsbehälters aufzunehmen, und wobei der Träger

(33) aus einem Material besteht, dass eine hohe thermische Leitfähigkeit hat, und dass er eine obere Fläche, eine untere Fläche und eine zylindrische Außenwand hat, wobei jede der Kammer (27) des Trägers (33) eine Öffnung hat, die in der oberen Fläche des Trägers liegt,  
5  
b) in den Kammern (27) des Trägers (33) angeordneten Reaktionsbehälter (21), die je mit einem Deckel (87) verschlossen sind,  
c) eine computergesteuerte Steuer- und  
Regeleinrichtung, und  
d) durch die Steuer- und Regeleinrichtung  
gesteuerte Mittel zur zyklischen Änderung der  
Temperatur des Trägers,

10

15

welche Vorrichtung dadurch gekennzeichnet ist, dass

(i) die Anordnung der Kammer (27) im Träger (33) ringförmig ist,  
20  
(ii) sie einen klappbaren Deckel (28) zum Festhalten der verschlossenen, im Träger (33) angeordneten Reaktionsbehälter (21) enthält, und  
(iii) eine Aushebevorrichtung zur Erleichterung der Entnahme der Reaktionsbehälter (21) aus den Kammern (27) im Träger (33) enthält, welche Aushebevorrichtung einen Auswurfhebel (55), der an einem Ende mit einem Scharnier des klappbaren Deckels (28) verbunden und am anderen Ende frei ist, und eine Auswurfscheibe (58) enthält, die mit der Rotationssymmetriearchse des Trägers (33) konzentrisch ist, auf dem Auswurfhebel (55) befestigt ist und an der Peripherie eine Anordnung von Ausnehmungen (61) hat, die zur Entnahme der Reaktionsbehälter (21) aus den Kammern (27) dienen.

25

30

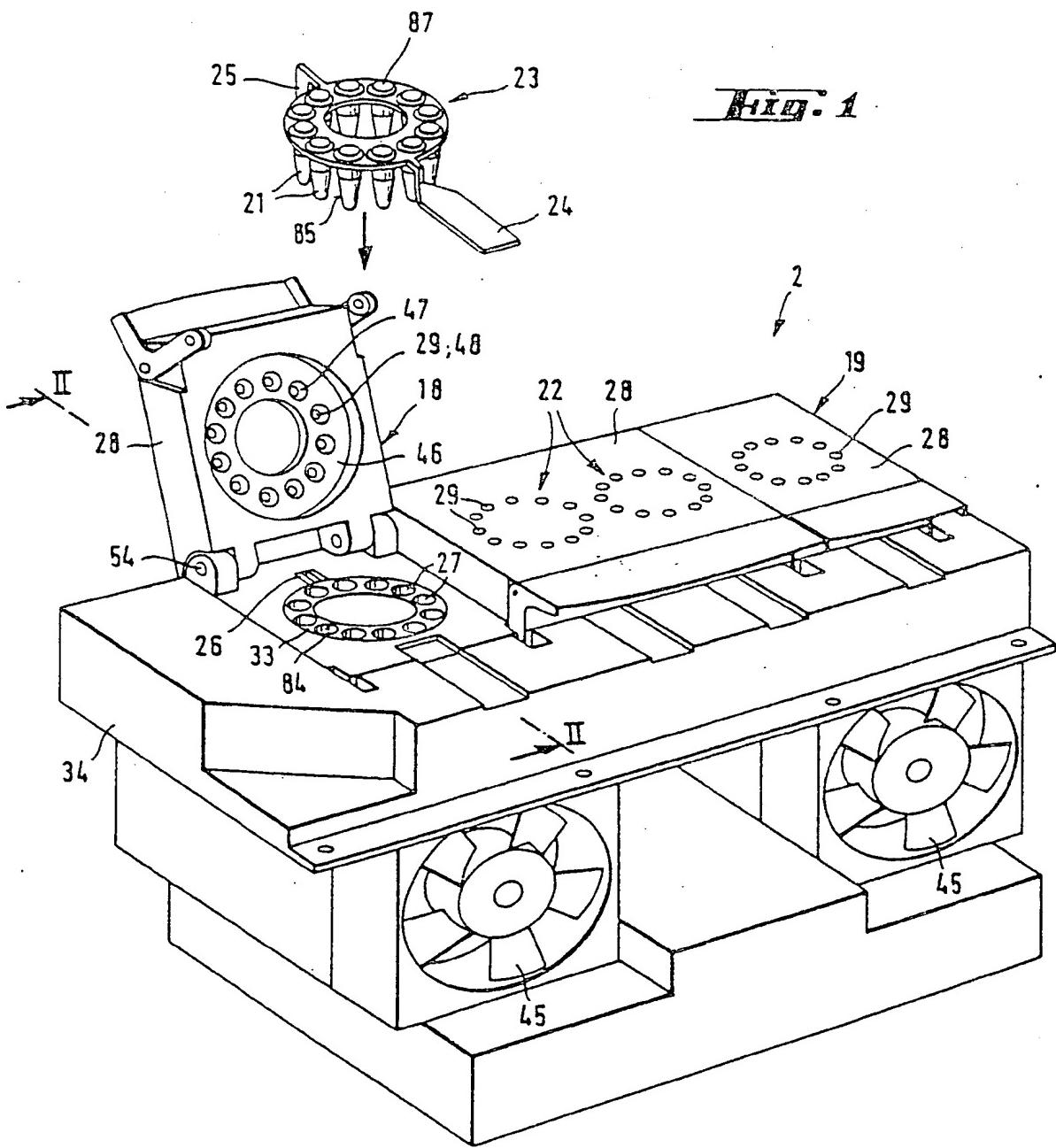
35

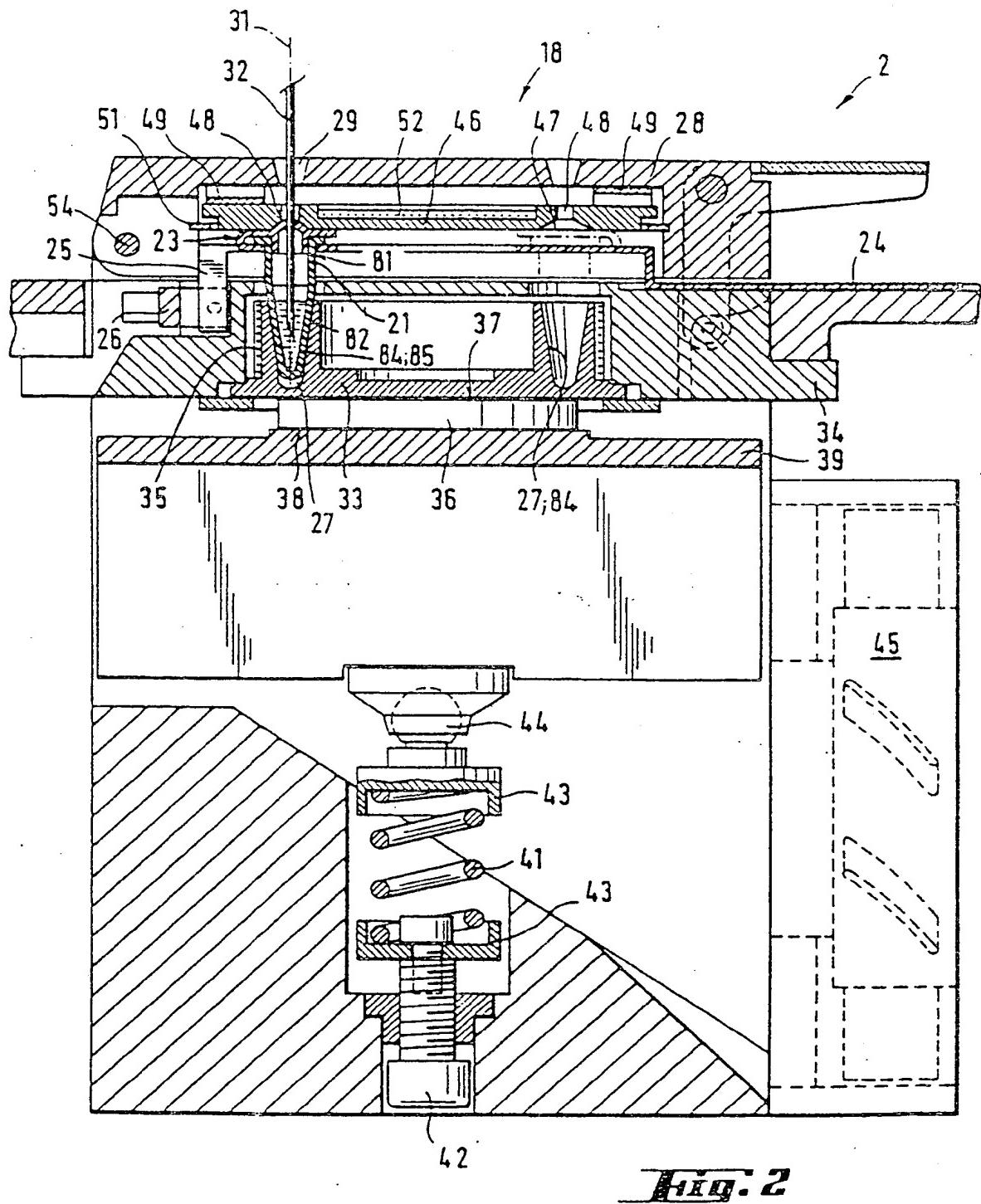
40

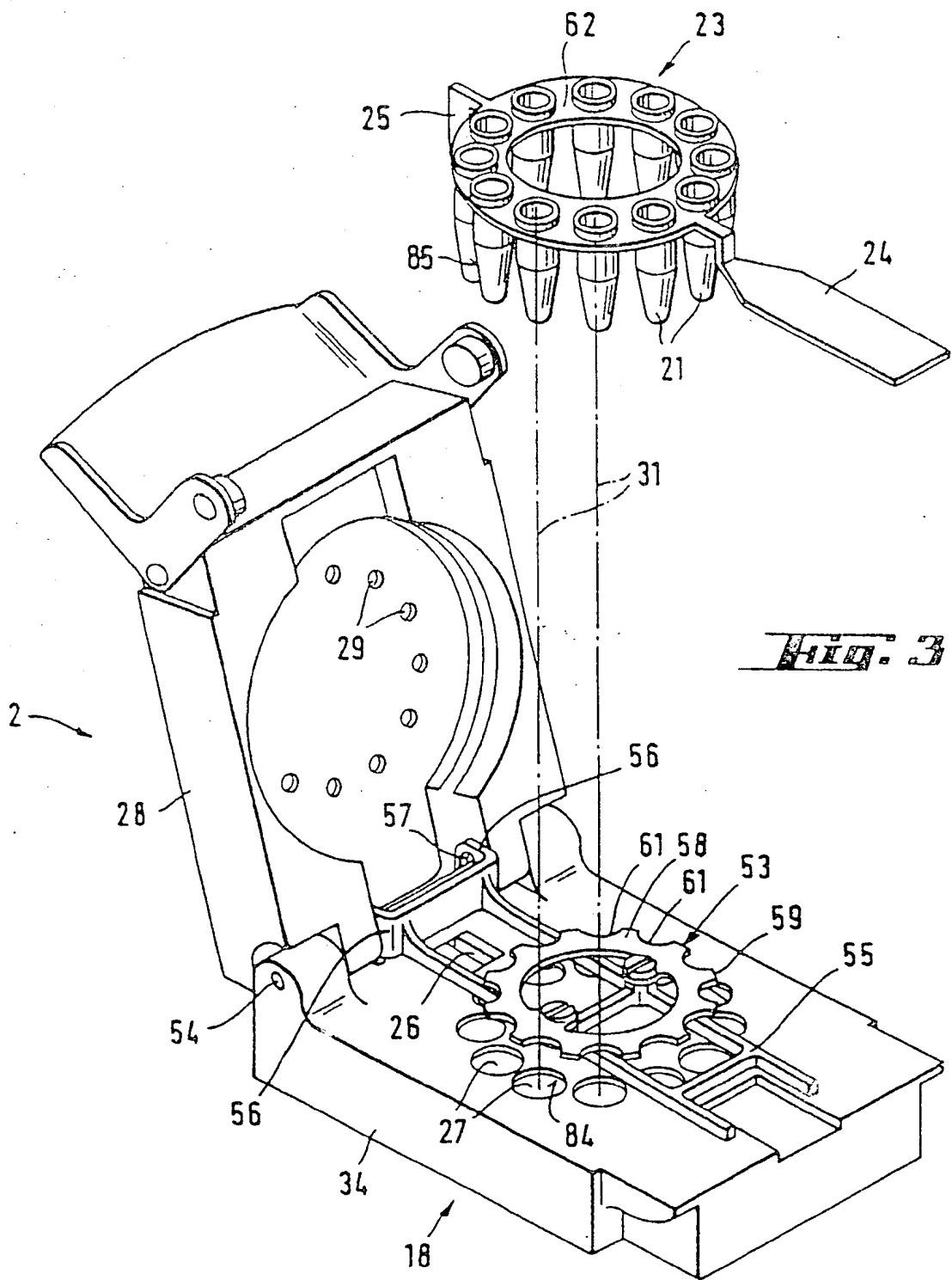
45

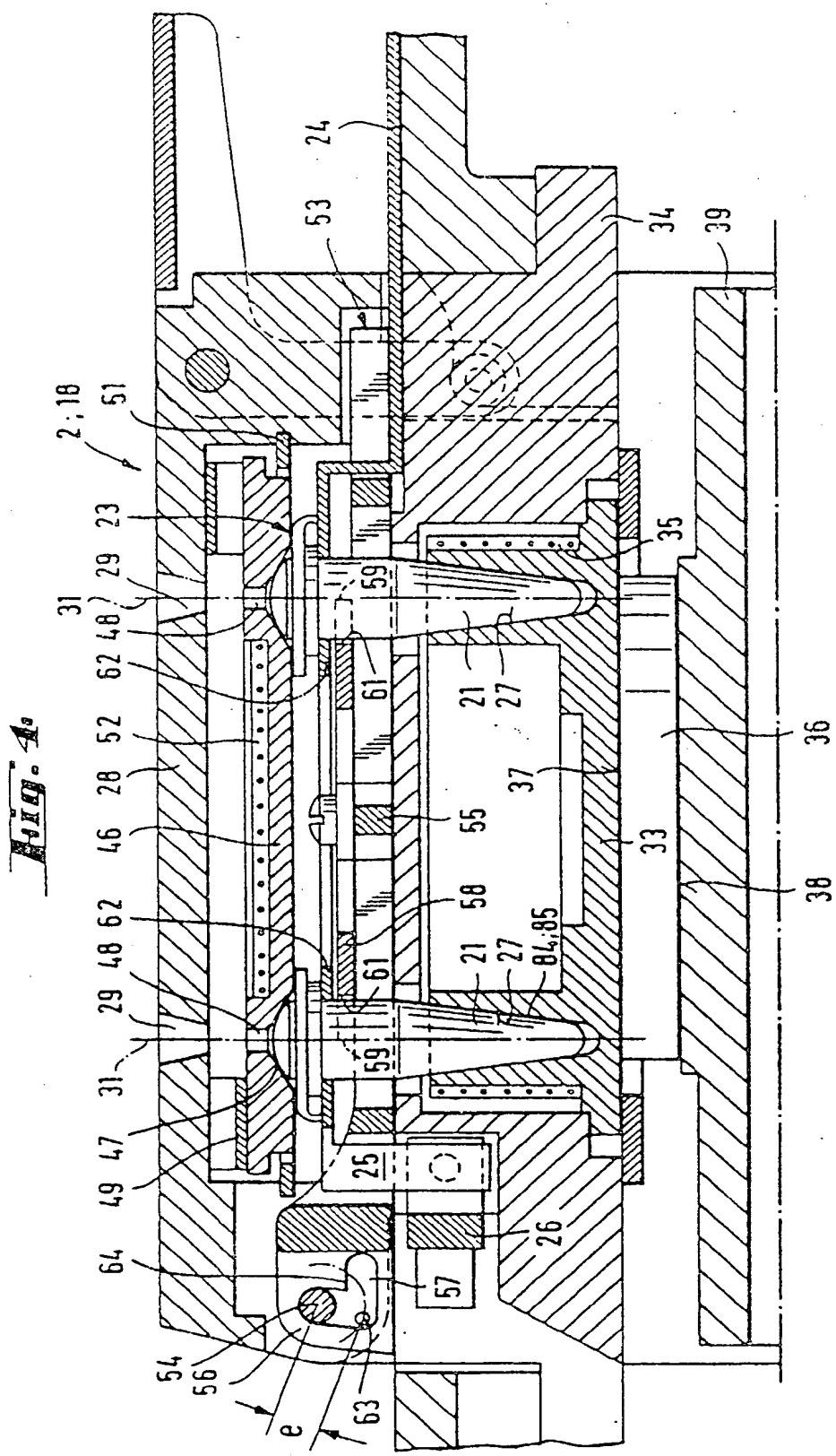
50

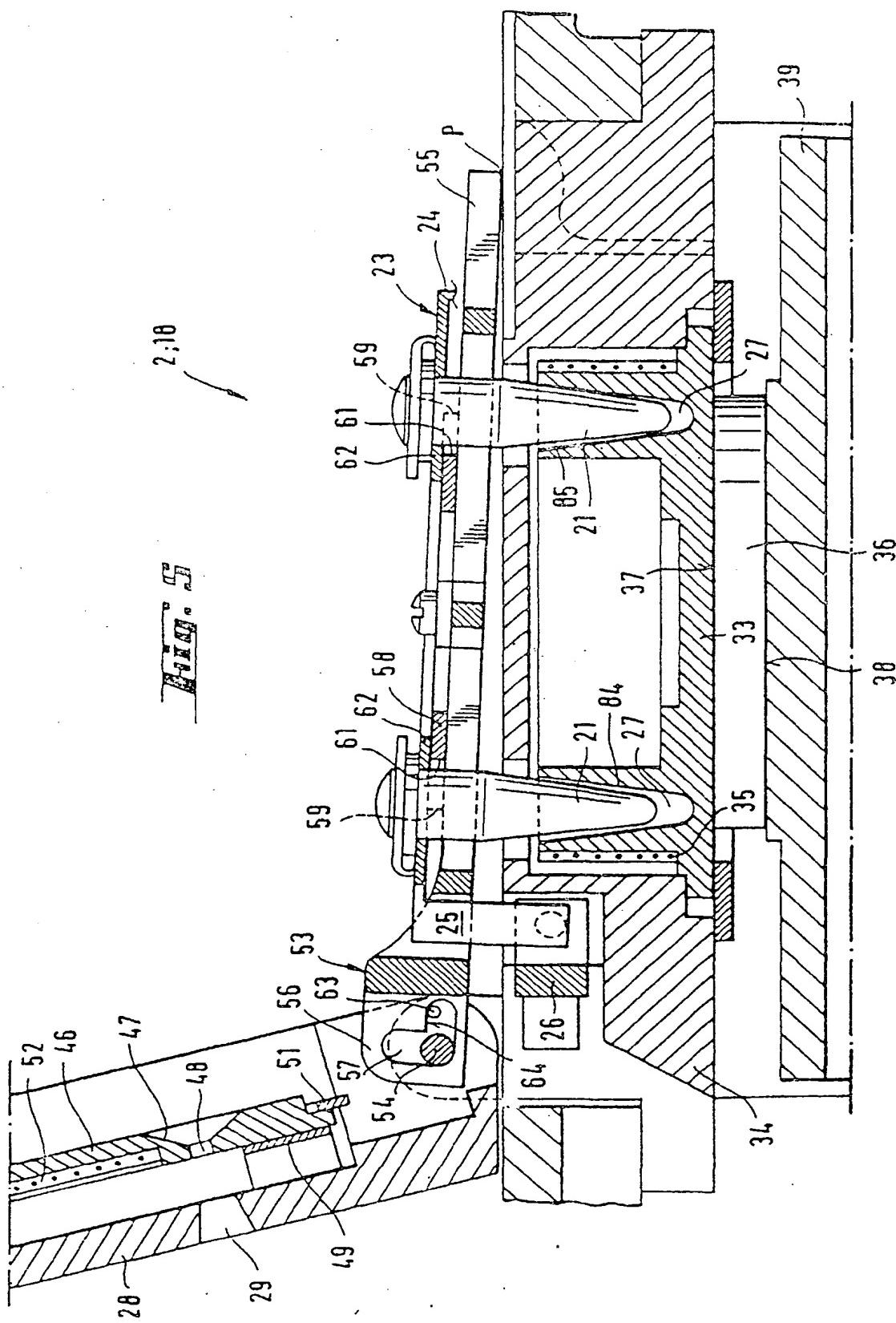
55

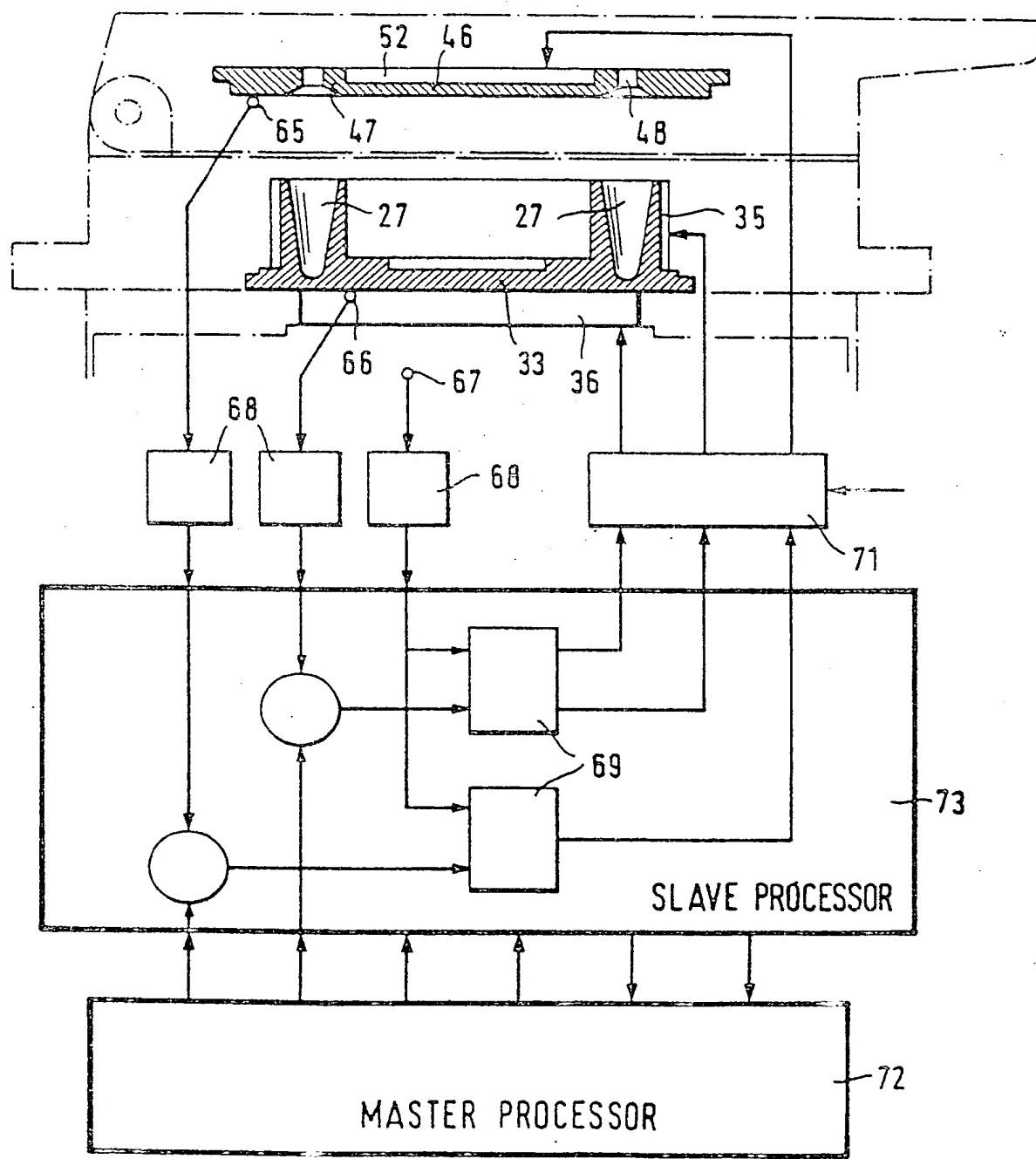


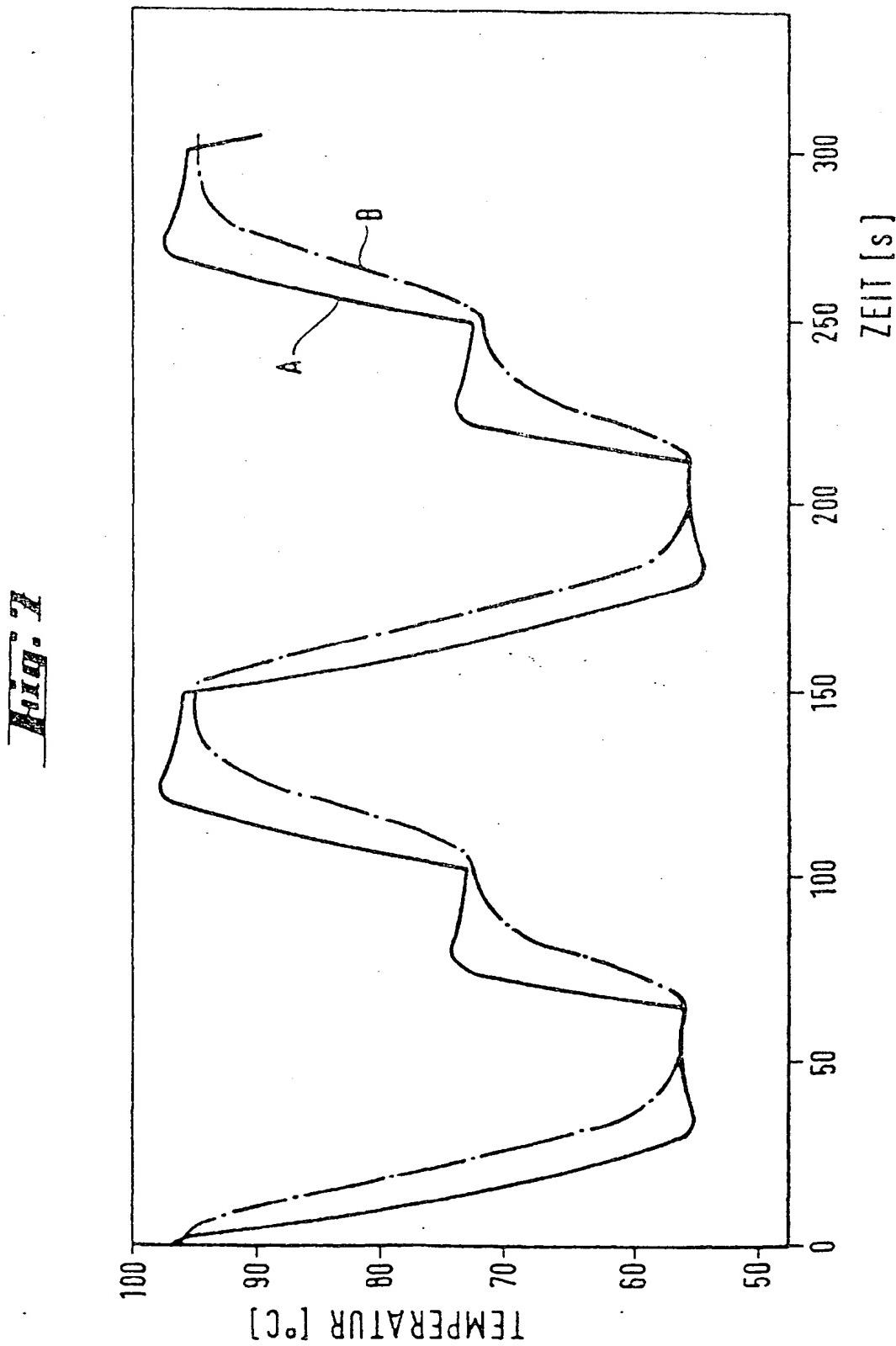
**FIG. 2**







*Fig. 6*





(19)

Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



(11)

EP 0 807 467 A3

(12)

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(88) Veröffentlichungstag A3:  
03.06.1998 Patentblatt 1998/23

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>: B01L 7/00, B01L 9/06,  
C12Q 1/68

(43) Veröffentlichungstag A2:  
19.11.1997 Patentblatt 1997/47

(21) Anmeldenummer: 97112702.2

(22) Anmeldetag: 31.08.1994

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
AT BE CH DE DK ES FR GB IT LI NL

(72) Erfinder:  
• Moser, Rolf  
6354 Vitznau (CH)  
• Birrer, Lukas  
6005 Luzern (CH)

(30) Priorität: 10.09.1993 CH 2717/93

(74) Vertreter:  
Ventocilla, Abraham et al  
Grenzacherstrasse 124  
4070 Basel (CH)

(62) Dokumentnummer(n) der früheren Anmeldung(en)  
nach Art. 76 EPÜ:  
94113574.1 / 0 642 831

(71) Anmelder:  
F. HOFFMANN-LA ROCHE AG  
4070 Basel (CH)

## (54) Vorrichtung zur automatischen Durchführung von Polymerase-Kettenreaktionen

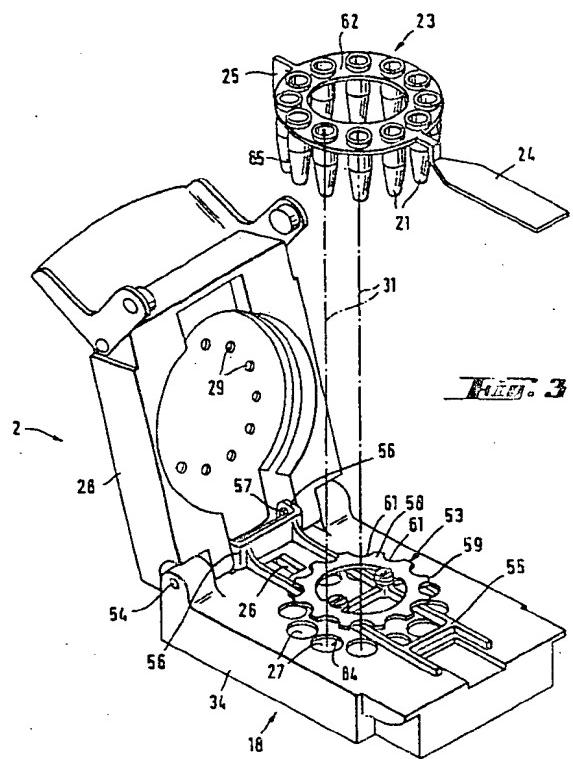
(57) Vorrichtung zur automatischen Durchführung von Polymerase-Kettenreaktionen in einer Vielzahl von Reaktionsbehältern, wobei jedes Reaktionsbehälter mit einem Deckel verschlossen ist und ein vorbestimmtes Volumen eines flüssigen Reaktionsgemisches enthält, welche Vorrichtung folgende Komponenten enthält:

dadurch gekennzeichnet, dass

- a) einen Träger (33), der eine Anordnung von Kammern (27) zur Aufnahme der Reaktionsbehälter hat (21), wobei jede Kammer dazu geeignet ist, den unteren Teil eines Reaktionsbehälters aufzunehmen, und wobei der Träger (33) aus einem Material besteht, dass eine hohe thermische Leitfähigkeit hat, und dass er eine obere Fläche, eine untere Fläche und eine zylindrische Außenwand hat, wobei jede der Kammer (27) des Trägers (33) eine Öffnung hat, die in der oberen Fläche des Trägers liegt,
- b) in den Kammern (27) des Trägers (33) angeordneten Reaktionsbehälter (21), die je mit einem Deckel (87) verschlossen sind,
- c) eine computergesteuerte Steuer- und Regeleinrichtung, und
- d) durch die Steuer- und Regeleinrichtung gesteuerte Mittel zur zyklischen Änderung der Temperatur des Trägers.

- (i) die Anordnung der Kammer (27) im Träger (33) ringförmig ist,
- (ii) sie einen klappbaren Deckel (28) zum Festhalten der verschlossenen, im Träger (33) angeordneten Reaktionsbehälter (21) enthält, und
- (iii) eine Aushebevorrichtung zur Erleichterung der Entnahme der Reaktionsbehälter (21) aus den Kammern (27) im Träger (33) enthält, welche Aushebevorrichtung einen Auswurfhebel (55), der an einem Ende mit einem Scharnier des klappbaren Deckels (28) verbunden und am anderen Ende frei ist, und eine Auswurfscheibe (58) enthält, die mit der Rotationssymmetrieachse des Trägers (33) konzentrisch ist, auf dem Auswurfhebel (55) befestigt ist und an der Peripherie eine Anordnung von Ausnehmungen (61) hat, die zur Entnahme der Reaktionsbehälter (21) aus den Kammern (27) dienen.

Zur Erleichterung der Entfernung der Reaktionsbehälter aus den Kammern des Trägers ist die Vorrichtung





Europäisches  
Patentamt

# EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung  
EP 97 11 2702

<b>EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE</b>					
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.6)		
A	EP 0 488 769 A (PERKIN-ELMER CETUS INSTRUMENTS) * Seite 4, Zeile 21 - Seite 5, Zeile 40 * * Seite 7, Zeile 19 - Seite 8, Zeile 55 * * Seite 12, Zeile 1 - Zeile 29 * * Seite 22, Zeile 52 - Seite 24, Zeile 31 * * Seite 27, Zeile 30 - Seite 29, Zeile 35 *	1	B01L7/00 B01L9/06		
A	WO 92 20778 A (KINDCONI PTY LTD) * Seite 6, Zeile 2 - Seite 8, Zeile 2; Abbildungen *	1			
A	DE 88 04 938 U (DEUTSCHE METROHM GMBH) * Seite 6, Zeile 35 - Seite 9, Zeile 6 *	1			
A	DE 30 24 210 A (NORDDEUTSCHE SEEKABELWERKE AG) * Seite 5, Zeile 23 - Seite 8, Zeile 10; Abbildung *	1			
			RECHERCHIERTE SACHGEBiete (Int.Cl.6)		
			B01L G01N		
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt					
Recherchenort	Abschlußdatum der Recherche	Prüfer			
DEN HAAG	6.April 1998	Bindon, C			
<b>KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE</b>					
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nachdrückliche Offenbarung P : Zwischenliteratur					
T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmelde datum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument S : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument					

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER: \_\_\_\_\_**

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**